



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

## **A DOENÇA DE ALZHEIMER E A PERDA DE OLFATO**

Maria Mafalda Vieira

---

ABRIL'2020

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

## **A DOENÇA DE ALZHEIMER E A PERDA DE OLFATO**

Maria Mafalda Vieira

**ORIENTADO POR:**  
Dr<sup>a</sup>. Marta Canes Marques

---

**ABRIL'2020**

## **RESUMO**

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa muito comum, sendo a causa de demência mais presente no Mundo. A sua prevalência está a aumentar ao longo dos anos e, até à data, não é possível obter um diagnóstico definitivo desta patologia antes da morte. Deste modo, a descoberta de um biomarcador precoce para esta doença é imprescindível, a fim de se tentar evitar a progressão da mesma.

A disfunção olfativa é um dos primeiros sintomas da Doença de Alzheimer, estando presente na fase pré-clínica. Os testes ao olfato são não invasivos, baratos e fáceis de realizar, não dependendo dos médicos especialistas ou das análises laboratoriais. Por essa razão, o olfato é um possível bom biomarcador desta doença, podendo permitir o seu diagnóstico precoce e consequentemente, o acesso a melhores intervenções terapêuticas.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, disfunção olfativa, biomarcador

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

## **ABSTRACT**

Alzheimer's disease is a very common neurodegenerative disease and the main cause of dementia worldwide. Its prevalence is increasing across the years and until now it is still not possible to have a definitive diagnosis of this disease until after death. Therefore, it is very importante to develop a new ealry biomarker for this pathology, in order to try to prevent its progression.

Olfactory dysfunction is one of the earliest symptoms of Alzheimer's disease, being presente even in a pre-clinical setting. Olfactory tests are non-invasive, cheap, easy to perform and not reliant on specialist clinicians or laboratory analysis. Thus, smell could potentially be a suitable biomarker for Alzheimer's, allowing for an early diagnosis and consequently access to better therapeutic interventions.

**Keywords:** Alzheimer's disease, olfactory dysfunction, biomarker

## **ÍNDICE**

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>6</b>
<b>2. A DOENÇA DE ALZHEIMER</b>	<b>7</b>
2.1) Epidemiologia	7
2.2) Etiologia	7
2.3) Patogénese	8
2.4) Clínica	9
2.5) Diagnóstico	10
2.5.1) Diagnóstico Diferencial	11
2.6) Tratamento	12
<b>3. OLFATO</b>	<b>12</b>
3.1) Sistema olfativo	12
3.2) Métodos de avaliação do olfato	13
3.3) Disfunção do olfacto e qualidade de vida	15
3.4) Etiologia da anósmia	16
<b>4. A PERDA DE OLFATO E AS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS</b>	<b>16</b>
4.1) Disfunção olfativa associada ao envelhecimento	17
4.2) Disfunção olfativa como preditor da conversão de Défice Cognitivo Ligeiro em Alzheimer	18
4.3) Disfunção olfativa na Doença de Alzheimer	20
4.3.1) Neurodegeneração	21
4.3.2) Neuropatologia	21
4.3.3) Neurotransmissão	22
4.4) Os testes de olfato como possíveis biomarcadores da Doença de Alzheimer	23
<b>5. CONCLUSÃO</b>	<b>24</b>
<b>6. AGRADECIMENTOS</b>	<b>26</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>27</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O olfato é essencial para o exercício de diversas atividades inerentes ao cotidiano da vida humana, nomeadamente a alimentação, a higiene, a segurança e as relações interpessoais.

A função olfativa pode ser categorizada em normal (normósmica), diminuída (hipósmica) ou ausente (anósmica), de acordo com a capacidade em detetar corretamente um odor.<sup>1</sup>

Estima-se que a diminuição do olfato (anósmia ou hipósmia) afete de 3 a 20% da população.<sup>2</sup> Esta condição tem um grande impacto na qualidade de vida e na saúde dos indivíduos afetados, sendo uma ameaça ao bem-estar físico e mental dos mesmos. Existem várias causas para as disfunções olfativas, nomeadamente as doenças sinasais, as infeções do trato respiratório superior, o trauma e as doenças neurodegenerativas.<sup>2</sup>

Nos últimos anos, a associação entre a disfunção olfativa e as doenças neurodegenerativas tem sido cada vez mais reconhecida.<sup>1</sup>

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa muito frequente, sendo a causa de demência mais comum no Mundo. O aumento da sua prevalência nos últimos tempos leva à necessidade de desenvolver estratégias que permitam um diagnóstico na fase pré-clínica da doença para que seja possível desenvolver terapêuticas que previnam a sua progressão.

Embora os sintomas mais evidentes do Alzheimer sejam a nível cognitivo, verificou-se que a perda de olfato é muito prevalente, com início nos estadios iniciais desta doença e que persiste ao longo do curso da mesma.<sup>3</sup>

Deste modo, tem-se explorado a possibilidade de utilizar o olfato como um biomarcador da Doença de Alzheimer, que possa ser utilizado para estratégias de diagnóstico precoce.

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão acerca da disfunção olfativa na Doença de Alzheimer e da sua potencial utilização como biomarcador para diagnóstico precoce desta patologia. Para uma melhor compreensão, considerou-se relevante fazer um sumário inicial de alguns conceitos básicos da Doença Alzheimer e do sistema olfativo.

## **2. A DOENÇA DE ALZHEIMER**

### **2.1) Epidemiologia**

Nos últimos anos, enfrentamos um processo de envelhecimento populacional, devido aos avanços da medicina e, conseqüentemente, ao aumento da esperança média de vida. Com isto, tem-se assistido simultaneamente ao aumento da prevalência de doenças crónicas relacionadas com o envelhecimento, nomeadamente as doenças neurodegenerativas.<sup>4</sup>

Estima-se que a prevalência da Doença de Alzheimer seja de 50 a 75% da população idosa, duplicando a cada 5 anos depois dos 65 anos.<sup>5</sup>

Por ser uma doença com grande impacto cognitivo, interferindo nas atividades da vida diária, é uma causa relevante de dependência, incapacidade e mortalidade. Atualmente, é reconhecida pela Organização Mundial de Saúde como uma prioridade a nível de saúde pública, devido às suas implicações nos indivíduos e na sociedade.<sup>6</sup>

### **2.2) Etiologia**

A Doença de Alzheimer apresenta duas formas: uma forma esporádica, mais comum, e uma forma familiar autossómica dominante, bastante rara.<sup>7</sup>

A forma familiar está ligada a mutações em 3 genes: APP (proteína precursora de amiloide), PSEN1 (presenilina 1) e PSEN2 (presenilina 2), desenvolvendo-se a sintomatologia da doença mais cedo, geralmente entre os 30 e os 50 anos de idade.<sup>8</sup>

Quanto à forma esporádica, não é totalmente conhecida a sua etiologia, mas pensa-se que esteja relacionada com a complexa interação entre fatores genéticos e ambientais. A nível genético, a variante  $\epsilon 4$  do gene APOE é considerada o maior factor de risco para o desenvolvimento da doença.<sup>9</sup> Este mesmo risco aumenta três vezes na presença do alelo APOE  $\epsilon 4$  e dez vezes na presença dos dois alelos.<sup>10</sup>

Outros factores de risco são os de causa vascular (como diabetes, dislipidémia, hipertensão, obesidade e o tabaco), a falta de atividade física, a depressão, a diminuição da reserva cognitiva e o traumatismo craniano.<sup>7</sup>

### 2.3) Patogénese

Relativamente à patogénese da doença, a nível macroscópico, o cérebro encontra-se atrofiado, com os sulcos ampliados e os ventrículos alargados.

Microscopicamente, existem duas principais características histológicas:

- As placas de amilóide, acumulações extracelulares constituídas predominantemente por formas patológicas de  $\beta$ -amilóide;
- Os emaranhados de neurofibrilas que consistem em depósitos intracelulares (e depois extracelulares) de proteína tau hiperfosforilada, uma proteína estabilizadora de microtúbulos.

A patologia da proteína tau inicia-se no allocórtex no lobo temporal medial (córtex entorrinal e hipocampo), estendendo-se depois ao isocórtex associado. Por outro lado, a deposição de amilóide desenvolve-se no isocórtex e só mais tarde afeta as estruturas subcorticais, tendo uma menor extensão ao córtex entorrinal e ao hipocampo.

Para além destas características histológicas, existe também perda seletiva de neurónios no hipocampo e no córtex entorrinal, proliferação de astrócitos (gliose) e perda de sinapses.

A forma como todas estas alterações se relacionam entre si não está totalmente estabelecida e o evento primário que dá origem à doença ainda não é conhecido. A hipótese mais aceite atualmente sugere que o aumento da formação e acumulação de  $\beta$ -amilóide é o processo primário na patogénese da doença. O  $\beta$ -amilóide resulta do metabolismo da APP, uma proteína transmembranar que pode ser clivada por três enzimas ( $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\beta$  secretases). Num indivíduo saudável, a atividade da  $\alpha$ -secretase é a predominante, o que não leva à formação de  $\beta$ -amilóide. No entanto, na doença de Alzheimer, a APP é mais processada via  $\beta$  e  $\gamma$  secretase, levando então à acumulação desta substância. Esta tende a agregar-se, torna-se insolúvel e é tóxica para as sinapses e para os neurónios, causando a doença. É este fenómeno que se pensa estar na indução das cascatas de inflamação e da microglia, das anomalias iónicas, da disfunção mitocondrial, do stress oxidativo e da própria hiperfosforilação da proteína tau, com a formação dos emaranhados de neurofibrilas. Por sua vez, estes emaranhados causam disfunção sináptica e morte neuronal, levando a disfunção cortical. No entanto, esta hipótese é ainda controversa.<sup>11-13</sup>



## 2.4) Clínica

A primeira evidência da doença é geralmente a pequena perda de memória, que inicialmente pode ser difícil de distinguir do esquecimento normal relacionado com o avançar da idade. Esta condição é insidiosa e progressiva, ocorrendo primeiramente sobretudo para os eventos mais recentes, assistindo-se a um agravamento da perturbação da memória ao longo do tempo.

A linguagem é também afetada desde cedo, com dificuldade em encontrar as palavras pretendidas ou em nomear objetos. Há também diminuição da habilidade para construir frases fluentes e informativas. Os doentes, para além da afasia, podem manifestar apraxia e agnosia.

As competências visuoespaciais também podem estar comprometidas, com dificuldade em tarefas como copiar imagens ou aprender caminhos que são fora de ambientes familiares. Para além disso, há também perturbação das funções executivas, com dificuldade na tomada de decisões e no planeamento de tarefas.

As mudanças no comportamento são igualmente comuns. Os doentes podem demonstrar-se mais inquietos, sem conseguir descansar durante a noite, desorientados e, por vezes, perplexos. As atividades motoras podem estar aumentadas ao anoitecer e os ciclos de sono podem tornar-se desorganizados. A agressividade, quer física, quer verbal é frequente, por vezes para com os cuidadores, com resistência à prestação de cuidados.

Podem haver perturbações da personalidade e a depressão ocorre em 10% dos casos.<sup>7</sup>

Relativamente ao olfato, a anósmia é também muito frequente, ocorrendo previamente às alterações cognitivas, de forma gradual e, geralmente, sem que os doentes consigam identificar o exato momento em que começaram a desenvolver este sintoma.<sup>2</sup>

No que diz respeito ao curso dos sintomas, nos estádios iniciais da doença, as manifestações clínicas são modificadas pela personalidade pré-mórbida dos doentes, sendo que os seus traços basais tendem a tornar-se exagerados.<sup>7</sup> À medida que a patologia progride, as alterações cognitivas aumentam predominantemente e começam a interferir com as atividades da vida diária. Os doentes tornam-se cada vez mais dependentes e, nos estádios mais avançados, surgem então as alterações comportamentais e neurológicas.<sup>5</sup> A sobrevivência média dos doentes é de 5 a 7 anos, sendo ligeiramente menor nos homens do que nas mulheres. Uma sobrevivência

menor está associada a uma idade de início dos sintomas mais avançada e a uma taxa de deterioração cognitiva mais acelerada.<sup>7</sup>

## 2.5) Diagnóstico

O diagnóstico da Doença de Alzheimer é essencialmente clínico. Deve focar-se numa história clínica detalhada com base nas informações do doente e de outro informador e num exame físico que inclua a avaliação cognitiva. O teste *Mini-Mental State Examination* (MMSE) é comumente utilizado para estimar a gravidade e a progressão da disfunção cognitiva e para diagnosticar a demência.<sup>4</sup>

No que diz respeito aos exames complementares de diagnóstico, para todos os doentes com suspeita de Alzheimer, são realizadas primeiramente análises sanguíneas com hemograma, função renal, função tiroideia, vitamina B12 e folato para excluir outras condições que possam causar alterações cognitivas. Por vezes, pode ser pertinente pedir também testes serológicos específicos, dependendo do cenário clínico, para excluir condições infecciosas, inflamatórias ou metabólicas.<sup>5</sup>

Os testes genéticos podem ser utilizados para diagnosticar a forma familiar de Alzheimer autossómica dominante, quando existe suspeita clínica. Por outro lado, os testes genéticos para genes que representem apenas um factor de risco para o desenvolvimento da doença (como é o caso do APOE4) não são recomendados.

Relativamente aos métodos imagiológicos, a Ressonância Magnética ou, em alternativa, a Tomografia Computadorizada (TC) é recomendada para todos os doentes para excluir causas estruturais e para verificar a existência de alterações consistentes com Alzheimer. A presença de atrofia temporal medial focal simétrica tem valor preditivo para a doença.<sup>14</sup> Pode também ser utilizada a 18F-fluorodeoxyglucose (FDG) Tomografia por Emissão de Positrões (PET), sendo que o hipometabolismo nas áreas parieto-temporal, cíngulo posterior e precuneus suportam o diagnóstico.<sup>15</sup>

Outros exames estão a ser estudados como possíveis biomarcadores da doença, como a PET do amiloide cerebral e da proteína tau e análise do LCR.

A PET do amiloide cerebral está atualmente disponível com três agentes diferentes: florbetapir, flutemetamol e florbetaben, todos eles com ligação ao  $\beta$ -amilóide fibrilar. No entanto, esta ainda não é comparticipada pelo Estado na maioria dos países e estão

a ser feitos estudos para avaliar a sua utilidade clínica e o custo da sua implementação.

Recentemente desenvolveu-se ainda a PET da proteína tau, com a utilização de marcadores como o AV1451, mas esta ainda é apenas utilizada com a finalidade de investigação científica.<sup>16</sup>

A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é utilizada essencialmente para excluir outras condições raras que possam causar défice cognitivo, mas também para auxiliar no diagnóstico molecular da doença de Alzheimer. Postulou-se que a análise do LCR poderia ser um ótimo recurso para a criação de um biomarcador para esta doença, uma vez que este líquido está em contacto direto com o cérebro. Assim, através da sua composição molecular, poderia conhecer-se as alterações biológicas que ocorrem a nível cerebral,<sup>4</sup> sendo que o padrão molecular típico do Alzheimer consiste em níveis baixos de A $\beta$ 42 e níveis elevados de proteína tau e tau fosforilada. Apesar do postulado sobre a análise do LCR, na prática este método não é utilizado como *follow-up* dos doentes, por ser um procedimento invasivo.

Assim, até à data, os biomarcadores específicos da doença acima referidos não são utilizados por rotina na prática clínica, mas prevê-se que num futuro próximo possam vir a ser.<sup>17</sup> Atualmente, o diagnóstico definitivo da doença só é possível através da avaliação clínica e pela verificação dos biomarcadores cerebrais da doença nos indivíduos pos-mortem.

### **2.5.1) Diagnóstico Diferencial**

A avaliação de um doente que se apresenta com alterações cognitivas envolve diversas fases. Primeiramente, é necessário definir se estas alterações se devem a demência, excluindo outras condições como o delirium, a amnésia e a depressão. Assumindo o diagnóstico de síndrome demencial, existem várias causas possíveis, nomeadamente a Doença de Alzheimer, a Doença de Parkinson, a Demência dos Corpos de Lewy, a Demência Frontotemporal, a Demência Vascular, a Doença de Priões e o Hidrocéfalo de pressão normal.<sup>7</sup>

## **2.6) Tratamento**

Atualmente, não existe terapêutica modificadora da doença de Alzheimer. Isto é, até à data, não está disponível nenhuma terapêutica que seja capaz de alterar a patologia da doença ou o curso da mesma.<sup>5</sup> Isto pode dever-se ao facto de ainda não serem totalmente conhecidos os mecanismos que estão na origem da patologia.<sup>4</sup>

Existe medicação que pode aliviar os sintomas da doença, mas a falta de um diagnóstico precoce e robusto pode levar a que a intervenção que é dada aos doentes não seja numa fase suficientemente inicial para ser eficaz. Deste modo, torna-se urgente a descoberta de um biomarcador que possa diagnosticar a doença na fase pré-sintomática, para que os tratamentos possam impedir a sua progressão.<sup>4</sup>

## **3. OLFATO**

### **3.1) Sistema olfativo**

O primeiro passo da percepção olfativa inicia-se a nível do nariz. Os odores entram na cavidade nasal, dissolvem-se na mucosa olfativa e interagem com os neurónios receptores a nível do epitélio olfativo. Esta interação faz-se através dos receptores olfativos transmembranares acoplados à proteína G.<sup>18</sup> Quando os odores interagem com os receptores olfativos, geram-se potenciais de ação no axónio dos neurónios receptores olfativos, transmitindo a informação ao bulbo olfatório.

Cada neurónio receptor olfativo expressa apenas um tipo de receptor transmembranar acoplado à proteína G. Os neurónios que expressam o mesmo receptor projetam-se para o mesmo glómulo no bulbo olfatório.<sup>18</sup> Os glómulos são estruturas esféricas nas quais os neurónios receptores olfativos sinapsam com as dendrites de neurónios secundários de projeção olfativa, de células mitrais e células adornadas. Estas células são os neurónios primários de projeção eferente do bulbo olfatório.

Os axónios provenientes dos neurónios receptores também sinapsam com as células periglomerulares (interneurónios que expressam GABA, dopamina e outros neurotransmissores) a nível do bulbo. Estas são ativadas pelo glutamato libertado pelas células mitrais e adornadas, causando inibição a nível do glómulo.<sup>19</sup>

Por sua vez, os neurónios do bulbo olfatório projetam-se através do trato olfatório lateral para o córtex olfatório primário, que inclui o núcleo olfatório anterior, o tubérculo olfatório, a amígdala, o córtex piriforme e o córtex entorrinal. As células do

núcleo olfatório anterior respondem ao estímulo dos odores e o córtex piriforme tem um papel fundamental no processamento dos odores baseado na experiência e na aprendizagem. A partir destas estruturas, a informação transmite-se para o córtex orbitofrontal, córtex insular e para o hipocampo dorsal. Para além disso, as regiões do tálamo também recebem informação olfativa de estruturas como o núcleo olfativo anterior, o córtex piriforme e o tubérculo olfatório.<sup>1</sup>

Todas estas áreas enviam projeções de volta para o bulbo olfatório, sendo que o sistema olfativo consiste numa interação complexa de conexões recíprocas diretas e indiretas com outras estruturas essenciais do cérebro.

### **3.2) Métodos de avaliação do olfato**

Testar o olfato através de um teste validado e estandardizado é essencial, uma vez que as queixas de alterações olfativas são subjetivas e nem sempre confiáveis. Estima-se que menos de um quarto dos doentes com disfunção olfativa seja consciente do seu problema antes de ser testado.<sup>20</sup>

Os testes à função olfativa podem dividir-se em psicofísicos, eletrofisiológicos e métodos de imagem.<sup>21</sup>

Relativamente aos métodos psicofísicos, a avaliação do olfato a nível clínico consiste essencialmente em três parâmetros: a identificação, o limiar e a discriminação de odores.<sup>22</sup>

Os testes de identificação de odores avaliam a habilidade de nomear corretamente um odor. Existem vários tipos de testes diferentes, sendo o *University of Pennsylvania Smell Identification Test* (UPSIT) e o *Sniffin' Sticks Test* os mais comuns.

O UPSIT consiste num teste com 40 substâncias microencapsuladas que são raspadas, libertando um odor. Os doentes devem escolher a descrição correspondente a cada odor, de uma lista com quatro opções para cada.<sup>23</sup> Uma vez que nem todos os odores são reconhecidos universalmente, este teste tem sofrido várias adaptações para poder ser utilizado nas diferentes culturas e linguagens e para as várias idades e géneros. Criou-se assim o *Brief Smell Identification Test*, com apenas 12 itens derivados do UPSIT, delineados para serem familiares em todas as culturas.<sup>24</sup>

O *Sniffin' Stick Test* inclui a identificação de 16 odores, também através de escolha múltipla com quatro opções diferentes para cada. Este teste inclui ainda a avaliação do limiar de odor e da discriminação.<sup>25</sup>

Para avaliar o limiar de odor, são apresentadas várias concentrações da mesma substância, geralmente numa escala ascendente, a fim de determinar a menor concentração necessária para um odor ser percebido.

Relativamente à avaliação da discriminação de odores, o objetivo é os doentes conseguirem diferenciar dois ou mais odores, sem ter de os identificar. Dentro deste parâmetro, temos ainda a avaliação da memória, testada cheirando um odor e conseguindo identificar o mesmo dentro de várias alternativas, depois de um intervalo de tempo. Também podemos testar a memória pedindo ao doente que relembre uma sequência particular de odores.

No que diz respeito aos testes eletrofisiológicos, o mais utilizado é o OERP (*Olfact Event-Related Potential*) que permite medir a função olfativa, fornecendo uma medida objetiva. Neste teste, o olfactómetro apresenta estímulos químicos com uma duração, concentração e tempo de elevação definida. Os odores são incorporados num fluxo de ar húmido e com a temperatura controlada que flui através do nariz. Este processo ativa um grande número de neurónios, sendo que esta atividade é registada através do Eletroencefalograma (EEG). O padrão temporal do disparo destes neurónios pode ser distinguido de outras atividades cerebrais através da média computacional dos sinais recebidos pelos elétrodos no couro cabeludo, resultando em respostas elétricas cujas formas de onda podem ser medidas. No entanto, o facto deste teste depender de equipamentos complexos e caros limita o seu uso na prática clínica.

Outro teste olfativo eletrofisiológico é o Eletroolfactograma (EOG). Neste caso, os elétrodos são colocados no interior do nariz, na superfície do epitélio olfativo. Assim, os potenciais de membrana mucosa, que provêm diretamente das regiões olfativas, podem ser determinados. No entanto, a utilização deste teste na prática clínica é também limitada, uma vez que muitos doentes não conseguem tolerar a presença dos elétrodos no interior do seu nariz sem anestesia. Para além disso, as respostas que são fornecidas pela localização do elétrodo podem não ser representativas de todo o epitélio olfativo e este teste demonstrou uma grande variabilidade inter-individual.

Quanto aos métodos de imagem, a Ressonância Magnética Funcional pode ser também utilizada para testar o olfato. Este teste utiliza o efeito BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent Effect*) para medir as alterações do fluxo sanguíneo no

cérebro. Assim, é possível determinar as regiões cerebrais onde ocorre atividade neuronal, uma vez que esta atividade aumenta o fluxo sanguíneo. As alterações a nível do olfato podem, assim, ser verificadas através de reduções do fluxo sanguíneo nas áreas responsáveis pelo processamento olfativo. Porém, este teste tem também uma grande variabilidade de resultados, não sendo utilizado por rotina na prática clínica.<sup>21</sup>

### **3.3) Disfunção do olfacto e qualidade de vida**

Atualmente, estima-se que a hipósmia e a anósmia afetem 3-20% da população.<sup>2</sup> Ambas estas condições têm um grande impacto na qualidade de vida e na saúde dos indivíduos.

O olfato é importante para detetar a presença de vários perigos, como o fumo, o gás ou até comida fora de prazo ou estragada. Os indivíduos com anósmia têm três vezes mais probabilidade de estarem em risco de experienciar um evento de perigo do que as pessoas com capacidade de olfato normal.<sup>26</sup>

Para além disso, o olfato tem também um papel essencial nos comportamentos alimentares, quer pela antecipação e estimulação do apetite<sup>27</sup>, quer pela percepção dos sabores durante o consumo das comidas. Deste modo, a diminuição ou a perda de olfato pode levar a anorexia, perda no prazer de comer e, consequentemente, a perda de peso. Por outro lado, em alguns casos, os indivíduos podem alterar as suas preferências alimentares, tentando usar sensações não olfativas para manter o prazer em comer, o que pode levar a aumento do peso.<sup>2</sup>

A anósmia pode ter ainda um grande impacto na higiene pessoal. Pode levar a que os indivíduos deixem de ter capacidade para sentir odores desagradáveis e, por essa razão, deixem de ter tanto cuidado com a sua higiene. Pode também levar a que os doentes exagerem na higiene pessoal, nomeadamente tomando banho várias vezes por dia ou utilizando quantidades excessivas de perfume. Os doentes queixam-se também de dificuldade em manter as suas relações interpessoais, tendo sido estudado que a disfunção olfativa pode até alterar o comportamento sexual.<sup>21</sup>

A disfunção olfativa pode assim causar mal-estar geral, ansiedade ou até depressão, sobretudo em mulheres.<sup>28</sup> Assim, é uma doença com grandes consequências a nível psicossocial.

### 3.4) Etiologia da anósmia

A anósmia pode resultar de diversas patologias de base. As causas mais comuns são as doenças sinonasais, infeções e o trauma. Outras causas possíveis são as associadas a anósmia congénita, idiopática, a doenças tóxicas ou a doenças neurodegenerativas, como é o caso da doença de Alzheimer. Também o avançar da idade é uma causa da diminuição da capacidade de olfato.<sup>2</sup>

Existem muitos outros factores que podem influenciar a capacidade de olfato, como factores genéticos, a prática de exercício físico, a nutrição, o tabaco, o sexo, os tratamentos médicos e a exposição a vírus.<sup>20</sup> Até a ocupação laboral dos indivíduos pode influenciar a função olfativa, o que foi demonstrado com *scores* mais elevados nos testes olfativos em profissionais que trabalham com vinhos<sup>29</sup> ou com perfumes.<sup>30</sup>

A forma como a anósmia se inicia pode dar pistas sobre a patologia que está na sua origem. No caso da alteração do olfato se ter iniciado subitamente e depois de um trauma ou de uma gripe severa, é muito provável que a causa seja pós-traumática ou pós infeção do trato respiratório, respetivamente. Se, por outro lado, o doente tiver dificuldades em referir o exato momento em que a doença se iniciou, se esta for gradual e se tiver flutuações olfativas, aponta para uma doença sinonasal de base. Se a anósmia tiver início gradual, não se conseguindo identificar também o exato momento em que se iniciou, é provável que seja devido à idade, a uma doença degenerativa ou idiopática. No caso das doenças neurodegenerativas, os doentes não apresentam flutuações olfativas. Finalmente, se os doentes não apresentarem memória de alguma vez terem tido função olfativa, aponta para uma causa congénita.<sup>2</sup>

## 4. A PERDA DE OLFATO E AS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

O défice olfativo nas doenças neurodegenerativas tem sido reconhecido desde há décadas, embora a forma como estas doenças afetam o sistema olfativo ainda não seja totalmente conhecida.<sup>31</sup> Estudou-se que as alterações no olfato estão associadas à Demência dos Corpos de Lewy, aos Distúrbios do Sono REM idiopáticos, ao Défice Cognitivo Ligeiro, à Doença de Parkinson e à Doença de Alzheimer, sendo estas duas últimas as mais estudadas. Nestas doenças, a disfunção olfativa ocorre nos estadios iniciais, sendo que os testes ao olfato, associados a outros marcadores clínicos,



biológicos ou neuroimagiológicos, são uma ferramenta útil para a detecção pré-clínica, diagnóstico diferencial e para possíveis estratégias terapêuticas.<sup>1</sup>

No caso da Doença de Alzheimer, a diminuição do olfato precede os sintomas cognitivos, sendo considerado um sintoma prodromico da doença.<sup>1</sup> Embora a via neuropatológica que leva à hipósmia ou anósmia nesta doença não esteja ainda estabelecida, vários estudos têm demonstrado placas de amiloide e emaranhados de neurofibrilas no sistema olfativo, o que parece estar na causa desta disfunção.<sup>32</sup> Porém, sabe-se que a hipósmia e a anósmia ocorrem fisiologicamente com o envelhecimento. Assim, um dos desafios que se levanta nos dias de hoje é saber diferenciar a disfunção olfativa relacionada com o envelhecimento da disfunção que ocorre nas doenças neurodegenerativas, nomeadamente na Doença de Alzheimer.

#### **4.1) Disfunção olfativa associada ao envelhecimento**

Vários estudos epidemiológicos têm demonstrado que a prevalência e a gravidade da disfunção olfativa aumenta com a idade. Estima-se que 10% das pessoas com mais de 65 anos têm alguma disfunção olfativa, variando de hipósmia moderada a anósmia, afetando 62-80% dos indivíduos com mais de 80 anos.<sup>1</sup> Verificou-se ainda que, no geral, esta alteração no olfato é mais grave nos homens do que nas mulheres.<sup>33</sup> Isto pode estar relacionado com o facto das mulheres terem uma melhor capacidade de olfato do que os homens. Um estudo revelou que o sexo feminino tem mais 40-50% células no bulbo olfatório do que sexo masculino<sup>34</sup>, o que corrobora esta hipótese.

As disfunções olfativas podem dever-se a alterações em diferentes níveis do sistema nervoso. Diversos factores podem contribuir para estes distúrbios, nomeadamente as alterações estruturais no epitélio olfativo, nos neurónios olfatórios sensoriais (incluindo o bulbo olfatório), nas vias e nas regiões de processamento.<sup>35</sup> As alterações a nível do sistema nervoso periférico podem resultar em défices a nível do limiar de odor. Por outro lado, as alterações a nível da discriminação e identificação de odores devem-se a danos a nível do sistema nervoso central.

No envelhecimento, tanto o limiar de odor, como a identificação e a discriminação parecem estar comprometidos, o que significa que as alterações podem estar tanto a nível periférico como central.<sup>9,11</sup> No entanto, até à data, vários estudos têm

demonstrado que na população idosa saudável, o limiar de odor é o parâmetro mais afetado.<sup>36</sup>

Os mecanismos que estão na base destas disfunções olfativas que ocorrem no envelhecimento ainda não são claros.<sup>37</sup> No entanto, existem diversos factores nos idosos que podem contribuir: a maior propensão para doenças nasais, a redução da largura do foramen na lâmina cribiforme, a perda de seletividade dos receptores para os odores, a diminuição do fluxo sanguíneo da mucosa nasal, as alterações nos neurotransmissores e nos sistemas neuromoduladores, a redução de enzimas metabolizadores na mucosa e as anomalias estruturais e funcionais no sistema olfatório.<sup>19,31,35,38</sup>

Quanto às alterações a nível do epitélio olfatório que ocorrem no envelhecimento, temos um estreitamento do epitélio e um declínio dos neurónios receptores olfatórios que geralmente se inicia após os 65 anos de idade.<sup>19,21,31</sup> Secundariamente a este dano que ocorre no epitélio, o bulbo olfatório diminui de tamanho uma vez que o número das lâminas que o constituem diminui, revelando atrofia e perda de elementos neuronais.<sup>19</sup>

No que diz respeito ao sistema nervoso central, com o envelhecimento, ocorre uma redução do volume do hipocampo, da amígdala, do córtex piriforme e do núcleo olfatório anterior.<sup>1</sup>

O envelhecimento pode ser um factor de confundimento no diagnóstico de disfunções olfativas associadas à Doença de Alzheimer, por um lado porque esta demência ocorre sobretudo em indivíduos idosos e, por outro, porque o avançar da idade é também uma causa de perda olfativa. Deste modo, quando um indivíduo idoso apresenta diminuição da capacidade de olfato, é importante realizar um exame físico que inclua a avaliação cognitiva, a fim de excluir demência. Para além disso, podem também utilizar-se métodos imagiológicos, como a RM cerebral para avaliar a existência de alterações estruturais compatíveis com doenças neurodegenerativas.

#### **4.2) Disfunção olfativa como preditor da conversão de Défice Cognitivo Ligeiro em Alzheimer**

O Défice Cognitivo Ligeiro é um estado de transição entre os indivíduos sem alterações cognitivas e os doentes com Alzheimer. Existem vários subtipos de Défice Cognitivo Ligeiro sendo que o subtipo em que o domínio da memória é o mais

afetado (o Défice Cognitivo Ligeiro Amnésico) é considerado um estadio precoce da Doença de Alzheimer.<sup>22</sup> Os indivíduos com Défice Cognitivo Ligeiro têm uma ligeira disfunção na memória e na cognição mas são capazes de efetuar as atividades da vida diária normalmente, pelo que se conclui que a cognição global está intacta.<sup>39</sup>

É expectável que os indivíduos com Défice Cognitivo Ligeiro desenvolvam Alzheimer a uma taxa de 15% por ano.<sup>39</sup> Dentro destes indivíduos, aqueles que têm o subtipo amnésico têm mais probabilidade de conversão.

Ao longo dos anos, vários métodos têm sido propostos para diagnosticar o Défice Cognitivo Ligeiro antes da sua conversão para Alzheimer, mas até à atualidade, nenhum marcador é considerado um bom preditor desta transição.

Muitos estudos estabeleceram que a perda de olfato é maior nos doentes com Défice Cognitivo Ligeiro do que nos indivíduos saudáveis e menor quando comparado com os doentes com Alzheimer.<sup>22</sup> Assim, estudou-se que a função olfativa diminui à medida que os doentes progridem de saudáveis para Défice Cognitivo Ligeiro e desta condição para Doença de Alzheimer.<sup>4</sup> Para além disso, dentro dos indivíduos sem alterações cognitivas, aqueles com *scores* mais baixos nos testes de identificação de odores demonstraram maior probabilidade de desenvolver Défice Cognitivo Ligeiro do que os indivíduos com *scores* normais. Os indivíduos com este Défice, que apresentam disfunção nos testes de identificação, têm também maior probabilidade de desenvolver Alzheimer do que os que não têm disfunção olfativa.<sup>39</sup> Verificou-se que os doentes com Défice Cognitivo Ligeiro e com alterações nos testes de identificação de odor têm um risco de conversão para Alzheimer 4 vezes superior.<sup>40-42</sup>

O domínio mais afetado nos doentes com Défice Cognitivo Ligeiro é a identificação de odores, embora estes também tenham alterações na discriminação de odores, mas os estudos são menos robustos ao comparar a sua relação com o Alzheimer.<sup>43</sup>

Um estudo que permitia avaliar a previsão da conversão de Défice Cognitivo Ligeiro Amnésico em Alzheimer, comparou vários testes de identificação de odores com outros marcadores invasivos. Concluiu-se que a especificidade e a sensibilidade do teste olfatório para detetar esta conversão é ligeiramente inferior aos métodos de imagem de Ressonância Magnética e semelhante aos biomarcadores do LCR.<sup>44</sup>

Uma meta-análise sugeriu que a combinação de testes de identificação de odor juntamente com biomarcadores de imagem e com avaliação clínica dos doentes é a melhor ferramenta para prever a conversão de Défice Cognitivo Ligeiro em Doença de Alzheimer.<sup>45</sup> Isto foi corroborado por um estudo *follow-up* de 3 anos que

demonstrou que a combinação da disfunção olfativa, da memória verbal, do volume do hipocampo e do córtex entorrinal tem um valor preditivo forte (90% de especificidade e 85,2% de sensibilidade) para a conversão de Déficit Cognitivo Ligeiro em Alzheimer.<sup>46</sup>

Apesar dos testes psicofísicos serem os mais utilizados nos vários estudos, alguns utilizaram o exame OERP para avaliar as diferenças a nível da resposta olfativa cortical entre os indivíduos com Déficit Cognitivo Ligeiro e os indivíduos idosos saudáveis. Os resultados demonstraram uma clara diminuição na função olfativa a nível central dos doentes com Déficit Cognitivo Ligeiro quando comparados com os indivíduos sem alterações cognitivas. Isto demonstra que o OERP pode ser um teste com utilidade no diagnóstico do Déficit Cognitivo Ligeiro antes da sua conversão para Doença de Alzheimer.<sup>47</sup>

Assim, os testes de função olfativa podem ser incorporados na avaliação da população de alto risco para demência a fim de conseguir diagnosticar o Alzheimer subclínico.

#### **4.3) Disfunção olfativa na Doença de Alzheimer**

Uma das primeiras regiões do cérebro afetadas na Doença de Alzheimer é o sistema olfativo, que é atingido pelas placas de amiloide e emaranhados de neurofibrilas. Estima-se que aproximadamente 85% dos doentes nos estadios iniciais da doença tenham disfunção olfativa<sup>43</sup>, sendo que esta se desenvolve previamente às alterações cognitivas.<sup>48</sup> À medida que a doença progride, também a disfunção olfativa agrava.<sup>43</sup> No entanto, este sintoma é muitas vezes impercetível para os doentes, sendo que apenas 6% se queixam de uma diminuição da capacidade olfativa nos estadios iniciais da doença.<sup>1</sup>

Estes doentes têm alterações no olfato a nível da detecção, do limiar de odor, identificação e discriminação de odores. No entanto, tem-se estudado que a identificação e a discriminação são funcionalidades mais afetadas do que a detecção de odor, sendo a identificação o domínio mais afetado.<sup>31,36,45</sup> Alguns estudos indicaram que aproximadamente 85-90% dos indivíduos com Alzheimer têm disfunção da identificação de odores, sendo este também o domínio mais testado nos vários estudos.<sup>42</sup> Relativamente ao limiar de odor, alguns estudos revelaram que as alterações neste domínio não aconteciam nas fases iniciais da doença, apesar de outro estudo indicar que esta também ocorria nos estadios precoces, bem como no Déficit

Cognitivo Ligeiro. Os resultados inconsistentes destes estudos podem estar relacionados com o facto dos métodos utilizados para testar a função olfativa serem diferentes.<sup>43</sup> Deste modo, são necessárias mais investigações que correlacionem as alterações no limiar de odor com a Doença de Alzheimer, uma vez que o domínio da identificação é aquele que se encontra melhor investigado.

Assim, estudos indicam que o olfato é afetado de forma diferente nos idosos saudáveis e nos que sofrem da doença de Alzheimer, uma vez que nos indivíduos saudáveis, como referido anteriormente, o domínio mais afetado parece ser o limiar de odor. Isto pode ser justificado com o facto da identificação e do reconhecimento de odores requererem capacidades cognitivas e de memória, dependentes de estruturas do Sistema Nervoso Central, que os indivíduos com Alzheimer têm comprometidas.<sup>35</sup>

#### **4.3.1) Neurodegeneração**

Tal como já foi referido, os mecanismos precisos que levam à disfunção olfativa na Doença de Alzheimer ainda não se conhecem.<sup>1</sup>

A diminuição na capacidade de identificação dos odores foi associada a algumas marcas de neurodegeneração, como a redução da espessura do córtex entorrinal e a diminuição dos volumes do hipocampo e da amígdala.<sup>49</sup>

Para além disso, estudos utilizando imagens de Ressonância Magnética Funcional demonstraram que os níveis de oxigenação sanguínea no córtex olfatório primário são inferiores em doentes com Alzheimer quando comparados com um controlo de indivíduos saudáveis. Estes resultados confirmam que este método de imagem é sensível à neurodegeneração relacionada com o olfato na Doença de Alzheimer, permitindo reconhecer a patologia nas fases iniciais. No entanto, devido à complexidade do sistema olfatório, a aplicação clínica dos métodos de imagem no estudo da função olfativa ainda tem um longo caminho a percorrer.<sup>43</sup>

#### **4.3.2) Neuropatologia**

Nos doentes com Alzheimer, existem depósitos de amiloide e de proteína tau nas várias regiões envolvidas no processamento da informação olfativa, tais como as áreas entorrinal e transentorrinal, o núcleo olfatório anterior e o bulbo olfatório.<sup>39</sup> A

nível do bulbo olfatório, foram encontradas placas de amilóide em número mínimo e emaranhados de neurofibrilas com proteína tau hiperfosforilada em quantidades superiores.<sup>50</sup>

É importante referir que a neuropatologia da doença de Alzheimer ocorre previamente ao início da sintomatologia clínica.<sup>39</sup>

Muitos estudos comprovaram uma relação entre os depósitos de  $\beta$ -amilóide e o padrão temporal e espacial de disfunção olfativa na doença de Alzheimer.<sup>51,52</sup> Um estudo demonstrou que o  $\beta$ -amilóide está presente no epitélio olfativo de 71% dos doentes com a Doença de Alzheimer e apenas em 22% dos casos controlo.<sup>53</sup> No entanto, a progressão das placas de amilóide no cérebro é menos previsível que a dos emaranhados de neurofibrilas.<sup>31</sup> Para além disso, estudos de imagem ao vivo demonstraram uma fraca associação entre o amilóide e as disfunções olfativas.<sup>49,54</sup>

Até à data, a grande maioria dos estudos demonstraram que os défices na identificação de odores não estão diretamente relacionados com a carga de amilóide, atribuindo estes défices a outras causas, nomeadamente às neurofibrilas de proteína tau e à neurodegeneração das regiões cerebrais. Deste modo, a diminuição na capacidade olfativa foi associada à deposição de neurofibrilas no bulbo olfatório e nas áreas de projeção olfativa, especialmente no córtex entorrinal e no hipocampo.<sup>1</sup>

De acordo com o estadiamento Braak do Alzheimer<sup>55</sup>, à medida que esta doença progride, três estádios principais podem ser distinguidos de acordo com a distribuição dos emaranhados de neurofibrilas: trans-entorrinal, límbico e neocortical.<sup>19,50</sup> Isto é, à medida que a doença evolui os emaranhados de neurofibrilas desenvolvem-se num padrão característico que demonstra um grande envolvimento do córtex entorrinal, peririnal, do hipocampo e da amígdala inicialmente. Só depois há envolvimento do restante córtex, o que sugere que as áreas que são cruciais para a informação olfativa têm carga elevada de patologia tau.

#### **4.3.3) Neurotransmissão**

Também os sistemas neuromoduladores são afetados desde cedo na Doença de Alzheimer, com uma perda de 30-50% das células colinérgicas nos núcleos de Meynert.<sup>56</sup> Estes défices colinérgicos podem contribuir para a perda de olfato nos

doentes com Alzheimer na medida em que a acetilcolina tem um papel fundamental no processo de aprendizagem olfativa.<sup>57</sup>

Estudos demonstraram que o donepezilo, um inibidor da acetilcolinesterase, atrasa a progressão dos sintomas do Alzheimer por aproximadamente 6 meses a 1 ano,<sup>39</sup> sendo este o primeiro fármaco prescrito na prática clínica para esta doença. Um estudo demonstrou uma melhoria da identificação de odores com a utilização de donepezilo em doentes com Alzheimer,<sup>58</sup> o que sugere que as alterações funcionais no olfato podem ser usadas para prever os efeitos terapêuticos nesta doença.

#### **4.4) Os testes de olfato como possíveis biomarcadores da Doença de Alzheimer**

Um biomarcador pode ser medido objetivamente para diagnosticar com precisão e confiabilidade ou para prever uma condição fisiológica ou patológica.<sup>4</sup>

No caso da Doença de Alzheimer, a utilização de um biomarcador que fosse capaz de detetar a doença em estadios clínicos iniciais facilitaria o diagnóstico precoce e a gestão da mesma. Todos os biomarcadores estudados até à data requerem equipamentos caros e médicos treinados para a sua utilização e posterior interpretação dos resultados. Por essa razão, ainda não existe nenhum biomarcador global utilizado na prática clínica.

Os testes para avaliar o olfato são fáceis de realizar, baratos e não invasivos, pelo que poderiam constituir bons biomarcadores para a doença. Uma vez que se tem demonstrado que os doentes com Défice Cognitivo Ligeiro já apresentam diminuição da função olfativa, quer a nível dos exames eletrofisiológicos, quer a nível dos psicofísicos, o uso destes testes poderia auxiliar no diagnóstico desta condição e impedir a sua conversão para Doença de Alzheimer. No entanto, teriam de ser tidos em conta factores como a alteração do domínio cognitivo dos doentes que podem influenciar a realização dos testes e os resultados. Para além disso, tem também de ser feita a distinção entre a perda de olfato que ocorre fisiologicamente nos indivíduos idosos daquela devida à doença de Alzheimer. Estudou-se que a identificação de odores é o domínio mais afetado no Alzheimer, ao contrário dos indivíduos idosos saudáveis que têm mais comprometido o limiar de odor. Porém, devido à natureza multifactorial da Doença de Alzheimer, quer a nível clínico, quer a nível neurológico, neste momento é difícil conseguir utilizar um biomarcador isoladamente que permita

diagnosticar a doença. Assim, por enquanto, os testes olfativos podem ser utilizados como método complementar ao exame clínico, incluindo o MMSE e aos métodos de imagem. Deste modo seria possível aumentar a especificidade e sensibilidade do diagnóstico, bem como realizá-lo numa fase mais precoce, permitindo gerir a progressão da doença.

## 5. Conclusão

Ao longo dos anos, foi comprovado que a prevalência e a gravidade das disfunções olfativas aumentam com a idade, apesar dos exatos mecanismos que estão na base destas alterações não serem ainda claros.

Para além disso, os indivíduos com doenças neurodegenerativas, nomeadamente a Doença de Alzheimer, apresentam uma função olfativa pior do que os indivíduos saudáveis da mesma idade. Estudou-se que a disfunção olfativa ocorre nos estadios iniciais da Doença de Alzheimer, iniciando-se na fase pré-clínica. A razão pela qual isto ocorre também não está estabelecida, mas pensa-se que esteja relacionado com mecanismos de neurodegeneração, com os emaranhados de neurofibrilas de proteína tau e com as alterações na neurotransmissão.

De todas as funções olfativas, a identificação de odores foi a mais testada nos vários estudos e foi aquela que demonstrou estar mais afetada nos indivíduos com Alzheimer. Os testes para avaliar este domínio demonstraram *scores* inferiores nos indivíduos com Déficit Cognitivo Ligeiro quando comparados com indivíduos cognitivamente normais. Assim, verificou-se que a disfunção olfativa, nomeadamente o déficit na identificação de odores, já está presente nos indivíduos com Déficit Cognitivo Ligeiro e permite prever a sua conversão para Doença de Alzheimer.

Por essa razão, os testes olfativos poderiam ser utilizados como biomarcadores desta doença, uma vez que são também baratos, não invasivos e fáceis de utilizar à cabeceira do doente. No entanto, isto tem algumas limitações, nomeadamente o facto dos vários testes para avaliar a função olfativa serem diferentes, podendo influenciar os resultados. Para além disso, nem todos os domínios olfativos foram bem estudados e é ainda um desafio distinguir a disfunção olfativa inerente ao envelhecimento daquela causada por esta demência. As alterações patológicas ainda não são totalmente claras e desconhece-se o exato momento em que os sistemas olfativos são afetados.



Assim, uma vez que ainda não foi possível desenvolver uma terapêutica modificadora para a Doença de Alzheimer, a utilização dos testes olfativos parece ser promissora para o diagnóstico precoce desta demência e gestão da mesma a fim de impedir a sua progressão. Porém, devido às suas limitações, são necessários mais estudos que avaliem as várias funções olfativas e a sua relação com as alterações visualizáveis nos métodos de imagem e com os restantes biomarcadores. Deste modo, seria possível introduzir os testes olfativos na prática clínica, para, juntamente com os restantes métodos, aumentar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico e permitir avaliar a resposta a certas terapêuticas em fase precoce.

## **6. AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em particular ao Professor Dr. Óscar Dias e à Dr<sup>a</sup>. Marta Canas Marques pelo acompanhamento ao longo deste percurso, pela transmissão de conhecimentos e pela sua atenção e disponibilidade. Um agradecimento final à minha família e amigos que demonstram diariamente um apoio incondicional a todos os níveis.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Marin C, Vilas D, Langdon C, et al. Olfactory Dysfunction in Neurodegenerative Diseases. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2018;18(8):42. doi:10.1007/s11882-018-0796-4
2. Boesveldt S, Postma EM, Boak D, et al. Anosmia—A Clinical Review. *Chem Senses.* 2017;42(7):513-523. doi:10.1093/chemse/bjx025
3. Bahuleyan B. Olfactory Memory Impairment in Neurodegenerative Diseases. *J Clin Diagn Res.* 2012. doi:10.7860/JCDR/2012/3408.2382
4. Kotecha A, Corrêa A, Fisher K, Rushworth J. Olfactory Dysfunction as a Global Biomarker for Sniffing out Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Biosensors.* 2018;8(2):41. doi:10.3390/bios8020041
5. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2018;25(1):59-70. doi:10.1111/ene.13439
6. WHO. WHO. [www.who.int](http://www.who.int).
7. harrison paul, cowen philip, burns tom, mina fazel. Shorter Oxford Textbook of Psychiatry. In: *Shorter Oxford Textbook of Psychiatry*. seventh edition.
8. Bateman RJ, Aisen PS, De Strooper B, et al. Autosomal-dominant Alzheimer's disease: a review and proposal for the prevention of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2010;3(1):1. doi:10.1186/alzrt59
9. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol.* 2011;10(3):241-252. doi:10.1016/S1474-4422(10)70325-2
10. Chouraki V, Seshadri S. Genetics of Alzheimer's Disease. In: *Advances in Genetics*. Vol 87. Elsevier; 2014:245-294. doi:10.1016/B978-0-12-800149-3.00005-6
11. Atri A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum. *Med Clin North Am.* 2019;103(2):263-293. doi:10.1016/j.mcna.2018.10.009
12. Hardy J. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science.* 2002;297(5580):353-356. doi:10.1126/science.1072994
13. Hyman BT. Amyloid-Dependent and Amyloid-Independent Stages of Alzheimer Disease. *Arch Neurol.* 2011;68(8):1062. doi:10.1001/archneurol.2011.70

14. Frisoni GB, Fox NC, Jack CR, Scheltens P, Thompson PM. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2010;6(2):67-77. doi:10.1038/nrneurol.2009.215
15. Kato T, Inui Y, Nakamura A, Ito K. Brain fluorodeoxyglucose (FDG) PET in dementia. *Ageing Res Rev*. 2016;30:73-84. doi:10.1016/j.arr.2016.02.003
16. Villemagne VL, Doré V, Bourgeat P, et al. A $\beta$ -amyloid and Tau Imaging in Dementia. *Semin Nucl Med*. 2017;47(1):75-88. doi:10.1053/j.semnuclmed.2016.09.006
17. Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med*. 2018;284(6):643-663. doi:10.1111/joim.12816
18. Masurkar AV, Devanand DP. Olfactory Dysfunction in the Elderly: Basic Circuitry and Alterations with Normal Aging and Alzheimer's Disease. *Curr Geriatr Rep*. 2014;3(2):91-100. doi:10.1007/s13670-014-0080-y
19. Attems J, Walker L, Jellinger KA. Olfaction and Aging: A Mini-Review. *Gerontology*. 2015;61(6):485-490. doi:10.1159/000381619
20. Doty RL. Olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases: is there a common pathological substrate? *Lancet Neurol*. 2017;16(6):478-488. doi:10.1016/S1474-4422(17)30123-0
21. Ottaviano G, Frasson G, Nardello E, Martini A. Olfaction deterioration in cognitive disorders in the elderly. *Ageing Clin Exp Res*. 2016;28(1):37-45. doi:10.1007/s40520-015-0380-x
22. Jung HJ, Shin I-S, Lee J-E. Olfactory function in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: A meta-analysis: Olfactory Function Deficit in MCI and AD. *The Laryngoscope*. 2019;129(2):362-369. doi:10.1002/lary.27399
23. Doty RL. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic. *World J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg*. 2015;1(1):28-33. doi:10.1016/j.wjorl.2015.09.007
24. Doty RL, Marcus A, William Lee W. Development of the 12-Item Cross-Cultural Smell Identification Test(CC-SIT). *The Laryngoscope*. 1996;106(3):353-356. doi:10.1097/00005537-199603000-00021
25. Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. "Sniffin" Sticks': Olfactory Performance Assessed by the Combined Testing of Odor Identification, Odor Discrimination and Olfactory Threshold. :14.
26. Pence TS, Reiter ER, DiNardo LJ, Costanzo RM. Risk Factors for Hazardous Events in Olfactory-Impaired Patients. *JAMA Otolaryngol Neck Surg*. 2014;140(10):951. doi:10.1001/jamaoto.2014.1675

27. Boesveldt S, de Graaf K. The Differential Role of Smell and Taste For Eating Behavior. *Perception*. 2017;46(3-4):307-319. doi:10.1177/0301006616685576
28. Philpott CM, Boak D. The Impact of Olfactory Disorders in the United Kingdom. *Chem Senses*. 2014;39(8):711-718. doi:10.1093/chemse/bju043
29. Banks SJ, Sreenivasan KR, Weintraub DM, et al. Structural and Functional MRI Differences in Master Sommeliers: A Pilot Study on Expertise in the Brain. *Front Hum Neurosci*. 2016;10. doi:10.3389/fnhum.2016.00414
30. Delon-Martin C, Plailly J, Fonlupt P, Veyrac A, Royet J-P. Perfumers' expertise induces structural reorganization in olfactory brain regions. *NeuroImage*. 2013;68:55-62. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.11.044
31. Rey NL, Wesson DW, Brundin P. The olfactory bulb as the entry site for prion-like propagation in neurodegenerative diseases. *Neurobiol Dis*. 2018;109:226-248. doi:10.1016/j.nbd.2016.12.013
32. Benarroch EE. Olfactory system: Functional organization and involvement in neurodegenerative disease. *Neurology*. 2010;75(12):1104-1109. doi:10.1212/WNL.0b013e3181f3db84
33. Choudhury ES. Influences of Age and Sex on a Microencapsulated Odor Memory Test. *Chem Senses*. 2003;28(9):799-805. doi:10.1093/chemse/bjg072
34. Oliveira-Pinto AV, Santos RM, Coutinho RA, et al. Sexual Dimorphism in the Human Olfactory Bulb: Females Have More Neurons and Glial Cells than Males. Ravel N, ed. *PLoS ONE*. 2014;9(11):e111733. doi:10.1371/journal.pone.0111733
35. Gros A, Manera V, De March CA, et al. Olfactory disturbances in ageing with and without dementia: towards new diagnostic tools. *J Laryngol Otol*. 2017;131(7):572-579. doi:10.1017/S0022215117000858
36. Silva M de M e, Mercer PBS, Witt MCZ, Pessoa RR. Olfactory dysfunction in Alzheimer's disease Systematic review and meta-analysis. *Dement Neuropsychol*. 2018;12(2):123-132. doi:10.1590/1980-57642018dn12-020004
37. Ottaviano G, Zuccarello D, Frasson G, et al. Olfactory Sensitivity and Sexual Desire in Young Adult and Elderly Men: An Introductory Investigation. *Am J Rhinol Allergy*. 2013;27(3):157-161. doi:10.2500/ajra.2013.27.3879
38. Doty RL, Kamath V. The influences of age on olfaction: a review. *Front Psychol*. 2014;5. doi:10.3389/fpsyg.2014.00020
39. Murphy C. Olfactory and other sensory impairments in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(1):11-24. doi:10.1038/s41582-018-0097-5

40. Devanand DP, Lee S, Manly J, et al. Olfactory deficits predict cognitive decline and Alzheimer dementia in an urban community. *Neurology*. 2015;84(2):182-189. doi:10.1212/WNL.0000000000001132
41. Devanand DP, Michaels-Marston KS, Liu X, et al. Olfactory Deficits in Patients With Mild Cognitive Impairment Predict Alzheimer's Disease at Follow-Up. *Am J Psychiatry*. 2000;157(9):1399-1405. doi:10.1176/appi.ajp.157.9.1399
42. Woodward MR, Amrutkar CV, Shah HC, et al. Validation of olfactory deficit as a biomarker of Alzheimer disease. *Neurol Clin Pract*. 2017;7(1):5-14. doi:10.1212/CPJ.0000000000000293
43. Zou Y, Lu D, Liu L-P, Zhang H, Zhou Y. Olfactory dysfunction in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat*. April 2016:869. doi:10.2147/NDT.S104886
44. Albers MW, Gilmore GC, Kaye J, et al. At the interface of sensory and motor dysfunctions and Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2015;11(1):70-98. doi:10.1016/j.jalz.2014.04.514
45. Rahayel S, Frasnelli J, Joubert S. The effect of Alzheimer's disease and Parkinson's disease on olfaction: A meta-analysis. *Behav Brain Res*. 2012;231(1):60-74. doi:10.1016/j.bbr.2012.02.047
46. Devanand DP, Liu X, Tabert MH, et al. Combining Early Markers Strongly Predicts Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry*. 2008;64(10):871-879. doi:10.1016/j.biopsych.2008.06.020
47. Invitto S, Piraino G, Ciccarese V, et al. Potential Role of OERP as Early Marker of Mild Cognitive Impairment. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:272. doi:10.3389/fnagi.2018.00272
48. Velayudhan L, Pritchard M, Powell JF, Proitsi P, Lovestone S. Smell identification function as a severity and progression marker in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*. 2013;25(7):1157-1166. doi:10.1017/S1041610213000446
49. Growdon ME, Schultz AP, Dagley AS, et al. Odor identification and Alzheimer disease biomarkers in clinically normal elderly. *Neurology*. 2015;84(21):2153-2160. doi:10.1212/WNL.0000000000001614
50. Tsuboi Y, Wszolek ZK, Graff-Radford NR, Cookson N, Dickson DW. Tau pathology in the olfactory bulb correlates with Braak stage, Lewy body pathology and apolipoprotein e4. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2003;29(5):503-510. doi:10.1046/j.1365-2990.2003.00453.x
51. Xu W, Fitzgerald S, Nixon RA, Levy E, Wilson DA. Early hyperactivity in lateral entorhinal cortex is associated with elevated levels of A $\beta$ PP

- metabolites in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2015;264:82-91. doi:10.1016/j.expneurol.2014.12.008
52. Wesson DW, Levy E, Nixon RA, Wilson DA. Olfactory Dysfunction Correlates with Amyloid- Burden in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *J Neurosci*. 2010;30(2):505-514. doi:10.1523/JNEUROSCI.4622-09.2010
  53. Kim JY, Rasheed A, Yoo S-J, et al. Distinct amyloid precursor protein processing machineries of the olfactory system. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;495(1):533-538. doi:10.1016/j.bbrc.2017.10.153
  54. Vassilaki M, Christianson TJ, Mielke MM, et al. Neuroimaging biomarkers and impaired olfaction in cognitively normal individuals: Biomarkers and Olfaction. *Ann Neurol*. 2017;81(6):871-882. doi:10.1002/ana.24960
  55. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1991;82(4):239-259. doi:10.1007/BF00308809
  56. Lehericy S, Hirsch EC, Cervera-Piérot P, et al. Heterogeneity and selectivity of the degeneration of cholinergic neurons in the basal forebrain of patients with Alzheimer's disease: DEGENERATION OF CHOLINERGIC NEURONS. *J Comp Neurol*. 1993;330(1):15-31. doi:10.1002/cne.903300103
  57. Tiraboschi P, Hansen LA, Alford M, et al. Early and Widespread Cholinergic Losses Differentiate Dementia With Lewy Bodies From Alzheimer Disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59(10):946. doi:10.1001/archpsyc.59.10.946
  58. Velayudhan L, Lovestone S. Smell Identification Test as a Treatment Response Marker in Patients With Alzheimer Disease Receiving Donepezil: *J Clin Psychopharmacol*. 2009;29(4):387-390. doi:10.1097/JCP.0b013e3181aba5a5